

09' 980019

PCT/JP 00/03472

30.05.00

日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

REC'D 09 JUN 2000

WIPO PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

1999年 6月 1日

出 願 番 号

Application Number:

平成11年特許願第153579号

出 願 人

Applicant (s):

小野薬品工業株式会社

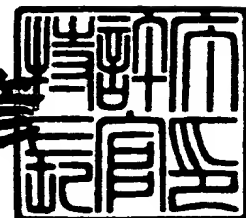
**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 5月12日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

近 藤 隆 彦



出証番号 出証特2000-3033654

【書類名】 特許願

【整理番号】 ONP3019

【提出日】 平成11年 6月 1日

【あて先】 特許庁長官 伊佐山 建志 殿

【国際特許分類】 A61K 9/00

【発明者】

 【住所又は居所】 横浜市戸塚区平戸町 1 0 8 7 - 1 7

 【氏名】 中西 親

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町桜井 3 - 1 - 1 小野薬品工業株式会社 水無瀬総合研究所内

 【氏名】 溪 英敏

【発明者】

 【住所又は居所】 大阪府三島郡島本町桜井 3 - 1 - 1 小野薬品工業株式会社 水無瀬総合研究所内

 【氏名】 西浦 昭雄

【特許出願人】

 【識別番号】 000185983

 【住所又は居所】 大阪府大阪市中央区道修町 2 丁目 1 番 5 号

 【氏名又は名称】 小野薬品工業株式会社

 【代表者】 上野 利雄

【代理人】

 【識別番号】 100081086

 【住所又は居所】 東京都中央区日本橋人形町 2 丁目 2 番 6 号 堀口第 2 ビル 7 階 大家特許事務所

 【弁理士】

 【氏名又は名称】 大家 邦久

 【電話番号】 03(3669)7714

【代理人】

【識別番号】 100088719

【住所又は居所】 東京都中央区日本橋人形町 2 丁目 2 番 6 号 堀口第 2 ビ
ル 7 階 大家特許事務所

【弁理士】

【氏名又は名称】 千葉 博史

【電話番号】 03(3669)7714

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 043731

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9710265

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 微小なりポソームおよびその製造方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 高濃度の糖水溶液もしくは糖スラリーに、脂質を含むリポソーム原料を注入することにより得られる微小なりポソーム。

【請求項 2】 高濃度の糖水溶液もしくは糖スラリーに、脂質を含むリポソーム原料を注入することにより得られる粒子径が 4 0 0 n m より小さい請求項 1 に記載のリポソーム。

【請求項 3】 糖 1 0 重量部に対して水を 1 ～ 3 0 重量部の割合で含む糖水溶液もしくは糖スラリーを用いる請求項 1 記載のリポソーム。

【請求項 4】 糖 1 0 重量部に対して水を 2 ～ 1 5 重量部の割合で含む糖水溶液もしくは糖スラリーを用いる請求項 3 記載のリポソーム。

【請求項 5】 単糖類、二糖類および糖アルコールから選ばれる一種または二種以上の糖を用いる請求項 1 記載のリポソーム。

【請求項 6】 グルコース、フルクトース、ガラクトース、マルトース、ラクトース、スクロース、トレハロース、キシリトール、マンニトールおよびエリスリトールから選ばれる一種または二種以上の糖を用いる請求項 5 記載のリポソーム。

【請求項 7】 糖 1 0 重量部に対して、脂質の割合が 5 重量部以下となる量の脂質を含むリポソーム原料を用いる請求項 1 記載のリポソーム。

【請求項 8】 脂質を含むリポソーム原料として、脂質の水溶性有機溶媒溶液を用いる請求項 1 記載のリポソーム。

【請求項 9】 水溶性有機溶媒が、炭素数 4 までの低級アルコール、アセトンおよびアセトニトリルから選ばれる請求項 8 記載のリポソーム。

【請求項 1 0】 脂質 1 0 重量部に対して 1 ～ 1 0 0 重量部の水溶性有機溶媒を使用する請求項 8 記載のリポソーム。

【請求項 1 1】 凍結乾燥リポソーム製剤としたときに、脂質 1 0 重量部に対して、0.5 ～ 5 0 重量部の水溶性有機溶媒が残存する請求項 1 0 記載のリポソーム。

【請求項 1 2】 凍結乾燥リポソーム製剤としたときに、脂質 1 0 重量部に対して、0.5～3 0 重量部の水溶性有機溶媒が残存する請求項 1 1 記載のリポソーム。

【請求項 1 3】 高濃度の糖水溶液もしくは糖スラリーに、脂質を含みリポソーム原料を注入し混合することを特徴とする微小なりポソームの製造方法。

【請求項 1 4】 高濃度の糖水溶液もしくは糖スラリーに、脂質を含みリポソーム原料を注入し混合して粒子径が 4 0 0 n m より小さいリポソームを得る請求項 1 3 に記載の微小なりポソームの製造方法。

【請求項 1 5】 糖 1 0 重量部に対して水を 1 ～3 0 重量部の比率で混合して得た糖水溶液もしくは糖スラリーを用いる請求項 1 3 記載のリポソームの製造方法。

【請求項 1 6】 糖 1 0 重量部に対して水を 2 ～1 5 重量部の比率で混合して得た糖水溶液もしくは糖スラリーを用いる請求項 1 5 記載のリポソームの製造方法。

【請求項 1 7】 単糖類、二糖類および糖アルコールから選ばれる一種または二種以上の糖を用いる請求項 1 3 記載のリポソームの製造方法。

【請求項 1 8】 グルコース、フルクトース、ガラクトース、マルトース、ラクトース、スクロース、トレハロース、キシリトール、マンニトールおよびエリスリトールから選ばれる一種または二種以上の糖を用いる請求項 1 7 記載のリポソームの製造方法。

【請求項 1 9】 糖 1 0 重量部に対して、脂質の割合が 5 重量部以下となる量の脂質を含みリポソーム原料を用いる請求項 1 3 記載のリポソームの製造方法。

【請求項 2 0】 脂質を含みリポソーム原料として、脂質の水溶性有機溶媒溶液を用いる請求項 1 3 記載のリポソームの製造方法。

【請求項 2 1】 水溶性有機溶媒が、炭素数 4 までの低級アルコール、アセトンおよびアセトニトリルから選ばれる請求項 2 0 記載のリポソームの製造方法。

【請求項 2 2】 脂質 1 0 重量部に対して 1 ～1 0 0 重量部の水溶性有機溶

媒を使用する請求項 2 0 記載のリポソームの製造方法。

【請求項 2 3】 凍結乾燥リポソーム製剤としたときに、脂質 1 0 重量部に対して、0.5～5 0 重量部の水溶性有機溶媒が残存するリポソームを得る請求項 2 2 記載のリポソームの製造方法。

【請求項 2 4】 凍結乾燥リポソーム製剤としたときに、脂質 1 0 重量部に対して、0.5～3 0 重量部の水溶性有機溶媒が残存するリポソームを得る請求項 2 3 記載のリポソームの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、糖類を用いて製造されるリポソームおよびその製造方法に関する。さらに詳しくは、高濃度の糖類を用いて製造される微小なリポソーム、およびその製造方法に関する。

【0 0 0 2】

【従来の技術およびその問題点】

リポソームは、脂質の閉鎖小包体であり、その小包体内部に封入した薬物を体内の特定部位に意図的に指向させること、また薬物の安定性や放出の持続性の確保を目的として利用されている。

その粒子径は、体内動態における重要な因子であり、例えば、血液循環系からの消失、各組織への分布、臓器による吸収、組織間の移行等に深くかかわっている。これらをスムーズに行なわせるためには、微小な粒子が好ましい。また、粒子径を微小化させることにより注射剤に要求されるフィルターろ過滅菌が可能となる。このように注射製剤においても粒子径は重要な因子である。

【0 0 0 3】

従来のリポソームの製造方法は、リン脂質を水性分散媒中に水和・膨潤させる第 1 工程と、所望の粒子径を得るために微小化させる第 2 工程とからなるものが多く、それぞれの工程において種々の工夫がなされている。

例えば、第 1 工程としては、脂質を揮発性有機溶媒に溶解した溶液から溶媒を留去し、容器内壁に脂質などからなる薄膜を形成させ、水性分散媒を加え攪拌し

、脂質の薄膜を水和および膨潤させる方法がある。この方法は比較的簡便ではあるが水和・膨潤後のリポソームは多層小包体であり、その粒子径はおよそ数～数100ミクロンと比較的大きい。そこで、注射剤等の小さな粒子径まで微小化する必要がある場合、微小化の工程が必要となる。

【0004】

第2工程となるリポソームの微小化や粒子径分布の均一化の方法としては、例えば、ポリカーボネートフィルターによるエクストルージョン、高圧乳化、超音波照射等がある（リポソーム（南江堂，1988年）参照）。微小化前の水和されたリポソームの粒子径が大きい場合には、同じ口径のポリカーボネートフィルターに、リポソーム分散液を繰り返して通過させたり（特許第2537186号明細書参照）、高圧での乳化や超音波照射時間の延長が必要となり、製造時間や製造装置の大型化が問題となる。

【0005】

そこで、上記の方法より容易に微小なりポソームを製造する方法、または有機溶媒を使用しないで、微小なりポソームを製造する方法がいくつか提案されている。

例えば、（1）よく知られた方法として界面活性剤除去法、有機溶媒注入法がある（リポソーム（南江堂，1988）、ライフサイエンスにおけるリポソーム実験マニュアル（シュプリングー・フェアラーク東京，1992）参照）。

界面活性剤除去法は、脂質を界面活性剤によって可溶化した後、界面活性剤を除去することにより微小なりポソームを得る方法として知られている。しかし、この方法を用いて大量調製する場合には、界面活性剤を除去する装置が必要であり、またその処理時間が問題となる。

【0006】

有機溶媒注入法は、脂質をエタノールなどの水溶性有機溶媒に溶解し、その溶液を水性分散媒中に注入するものであり、水和が容易で、かつ微小なりポソームを製造する方法として知られている。この方法で得られるリポソームの粒子径は、脂質溶液の濃度に大きく依存しており、脂質溶液をより希薄にすることによって微小なりポソームが得られる。しかし、脂質溶液を希薄にすると、必然的に用

いる有機溶媒量が増えることになる。

【0007】

さらに、これらの方法では、界面活性剤や有機溶媒を、透析やゲルろ過などにより除去する作業が必要であり、効率的な製造方法とは言えない。

(2) 有機溶媒を用いずに脂質を水和する方法として、加熱する方法、せん断力を加える方法、粉末化する方法などの物理的手段により脂質の水和を促進させる方法が知られている。

【0008】

しかし、脂質、薬物、水性分散媒またはその他の原料を脂質の相転移温度以上に加熱しながら攪拌する加温法（特公平4-36735号明細書または特公平4-28412号明細書参照）は、熱に弱い薬物を含む場合には適さず、脂質、薬物、水性分散媒またはその他の原料にせん断力を加えるメカノケミカル法は、脂溶性薬物の場合に回収率が定まりにくいという問題点がある。また、脂質とその他の原料を一旦溶解して粉末化する噴霧乾燥法（特公平4-37731号明細書参照）では、脂質の非晶質化と表面積の増大により水和が速やかに行なわれるが、やはり熱や回収率に問題があること、装置が大掛かりであることなどから、工業化が容易な方法ではない。

このようにそれぞれの方法には種々の問題がある上、水和後のリポソームの粒子径の微小化も十分なものではなかった。

【0009】

一方、リポソームを製造する際に、糖類や電解質などの水溶性の添加物がよく用いられる。

これらを添加する主な目的は、(1) 注射剤として用いる際の等張化、(2) 凍結乾燥時におけるリポソーム形態の保持、または(3) 脂質薄膜形成時の芯物質とするためである。

例えば、特開平9-110828号明細書には、活性成分以外の助剤として、糖類（ラクトース、マンニトール等）の添加が可能である旨の記載があり、製造時に10%マルトース溶液を用いている（実施例4）。

リポソームテクノロジー（Gregory Gregoriadis 編集、LIPOSOME TECHNOLOGY,

Vol. I, 2nd Edition, 229-252 (1993年発行)) には、凍結乾燥時におけるリポソーム形態の保持に与える、種々の糖の効果が検討されている。

【0 0 1 0】

また、特公平 3 - 6 2 6 9 6 号明細書には、糖類を賦形剤として用いて凍結乾燥することによりリポソーム製剤の特性が改善される旨の記載があり、製造時の糖類濃度は 1 ~ 1 0 % とある。

特公平 5 - 5 1 3 3 8 号明細書には、水可溶性粒状担体物質にリポソーム薄膜を被覆する方法が記載されており、その担体物質としてソルビトール、マンニトール、キシリトール、天然産出アミノ酸類、ラクトース、デキストロース、スクロースが挙げられている。また、約 1 ~ 1 0 % W / V、好ましくは約 3 ~ 7 % W / V の濃度の等張水溶液を形成すべきであると記載されている。

このようにリポソームを製造する際に従来から糖類が添加されてはいるが、いずれも微小なりポソームを製造することを目的として添加されたものではなく、またその濃度も等張である 1 0 % 程度でしか用いられておらず、本発明のように高濃度では用いられていない。

【0 0 1 1】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の課題は、有機溶媒を極力使用せず、また過酷な物理的処理手段を使用しないで、効率的に微小なりポソームを製造する方法、およびその製造方法によって得られる微小なりポソームを提供することにある。

【0 0 1 2】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決するために、鋭意研究を重ねた結果、リポソーム製造工程において、従来技術では採用されていない高濃度の糖類を用いることによって微小なりポソームが容易かつ効率的に製造できることを見出し、本発明を完成した。

すなわち、本発明は以下の微小なりポソーム及びその製造方法を提供するものである。

【0 0 1 3】

〔1〕高濃度の糖水溶液もしくは糖スラリーに、脂質を含むリポソーム原料を注入することにより得られる微小なリポソーム。

〔2〕高濃度の糖水溶液もしくは糖スラリーに、脂質を含むリポソーム原料を注入することにより得られる粒子径が400nmより小さい前項1に記載のリポソーム。

〔3〕糖10重量部に対して水を1～30重量部の割合で含む糖水溶液もしくは糖スラリーを用いる前項1に記載のリポソーム。

〔4〕糖10重量部に対して水を2～15重量部の割合で含む糖水溶液もしくは糖スラリーを用いる前項3に記載のリポソーム。

〔5〕単糖類、二糖類および糖アルコールから選ばれる一種または二種以上の糖を用いる前項1に記載のリポソーム。

〔6〕グルコース、フルクトース、ガラクトース、マルトース、ラクトース、スクロース、トレハロース、キシリトール、マンニトールおよびエリスリトールから選ばれる一種または二種以上の糖を用いる前項5に記載のリポソーム。

【0014】

〔7〕糖10重量部に対して、脂質の割合が5重量部以下となる量の脂質を含むリポソーム原料を用いる前項1に記載のリポソーム。

〔8〕脂質を含むリポソーム原料として、脂質の水溶性有機溶媒溶液を用いる前項1に記載のリポソーム。

〔9〕水溶性有機溶媒が、炭素数4までの低級アルコール、アセトンおよびアセトニトリルから選ばれる前項8に記載のリポソーム。

〔10〕脂質10重量部に対して1～100重量部の水溶性有機溶媒を使用する前項8に記載のリポソーム。

〔11〕凍結乾燥リポソーム製剤としたときに、脂質10重量部に対して、0.5～50重量部の水溶性有機溶媒が残存する前項10に記載のリポソーム。

〔12〕凍結乾燥リポソーム製剤としたときに、脂質10重量部に対して、0.5～30重量部の水溶性有機溶媒が残存する前項11に記載のリポソーム。

【0015】

〔13〕高濃度の糖水溶液もしくは糖スラリーに、脂質を含むリポソーム原料を

注入し混合することを特徴とする微小なりポソームの製造方法。

〔14〕高濃度の糖水溶液もしくは糖スラリーに、脂質を含むリポソーム原料を注入し混合して粒子径が400nmより小さいリポソームを得る前項13に記載のリポソームの製造方法。

〔15〕糖10重量部に対して水を1～30重量部の比率で混合して得た糖水溶液もしくは糖スラリーを用いる前項13記載のリポソームの製造方法。

〔16〕糖10重量部に対して水を2～15重量部の比率で混合して得た糖水溶液もしくは糖スラリーを用いる前項15記載のリポソームの製造方法。

〔17〕単糖類、二糖類および糖アルコールから選ばれる一種または二種以上の糖を用いる前項13記載のリポソームの製造方法。

〔18〕グルコース、フルクトース、ガラクトース、マルトース、ラクトース、スクロース、トレハロース、キシリトール、マンニトールおよびエリスリトールから選ばれる一種または二種以上の糖を用いる前項17記載のリポソームの製造方法。

〔0016〕

〔19〕糖10重量部に対して、脂質の割合が5重量部以下となる量の脂質を含むリポソーム原料を用いる前項13記載のリポソームの製造方法。

〔20〕脂質を含むリポソーム原料として、脂質の水溶性有機溶媒溶液を用いる前項13記載のリポソームの製造方法。

〔21〕水溶性有機溶媒が、炭素数4までの低級アルコール、アセトンおよびアセトニトリルから選ばれる前項20記載のリポソームの製造方法。

〔22〕脂質10重量部に対して、1～100重量部の水溶性有機溶媒を使用する前項20記載のリポソームの製造方法。

〔23〕凍結乾燥リポソーム製剤としたときに、脂質10重量部に対して、0.5～50重量部の水溶性有機溶媒が残存するリポソームを得る前項22記載のリポソームの製造方法。

〔24〕凍結乾燥リポソーム製剤としたときに、脂質10重量部に対して、0.5～30重量部の水溶性有機溶媒が残存するリポソームを得る前項23記載のリポソームの製造方法。

【 0 0 1 7 】

【発明の実施の形態】

本発明は、糖と水を加熱や攪拌によって混合した高濃度の糖水溶液もしくは糖スラリーに、脂質を含むリポソーム原料を注入し混合することにより得られる微小なリポソーム、及びその製造方法に関する。

本発明の方法によれば、少量の有機溶媒を使用して、また過酷な物理的処理手段を採用せずに、容易かつ効率的に微小なリポソームを得ることができる。

【 0 0 1 8 】

本発明によりリポソームを製造する際には、糖類は高濃度で用いられる。具体的には、糖 1 0 重量部に対して、水 1 ～ 3 0 重量部の比率で混合されたものが用いられる。好ましくは糖 1 0 重量部に対して、水 2 ～ 1 5 重量部、さらに好ましくは糖 1 0 重量部に対して、水 3 ～ 1 0 重量部の比率で用いられる。また、その糖類は溶液、またはスラリーの状態で行われる。

本発明で用いられる糖類としては、グルコース、フルクトース、ガラクトース等の単糖類、マルトース、ラクトース、スクロース、トレハロース等の二糖類、もしくはキシリトール、マンニトール、エリスリトール等の糖アルコール類があり、いずれも好ましい。また、糖類は一種または二種以上の糖類を組み合わせてもよい。より好ましくは、グルコース、マルトース、ラクトース、スクロース、トレハロース、キシリトールまたはそれらを組み合わせた糖類が用いられる。特に好ましくは、マルトースが用いられる。

【 0 0 1 9 】

本発明においては、糖と脂質の比率は制限されない。好ましくは、糖 1 0 重量部に対して、脂質を含むリポソーム原料中の脂質が 5 重量部以下となる比率で行われる。より好ましくは、糖 1 0 重量部に対して、リポソーム原料中の脂質が 1 重量部以下、特に好ましくは 0.0001 ～ 0.5 重量部の比率となる量のリポソーム原料が用いられる。

【 0 0 2 0 】

本発明に用いられる脂質としては、リン脂質や糖脂質が挙げられる。例えば、卵黄レシチン、大豆レシチン、ホスファチジルコリン（ジミリスチルホスファ

チジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジステアロイルホスファチジルコリン等）、リゾホスファチジルコリン、ホスファチジルグリセロール（ジミリストイルホスファチジルグリセロール、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール、ジステアロイルホスファチジルグリセロール等）、ホスファチジルセリン、ホスファチジリエタノールアミン、スフィンゴミエリン、ジセチルホスフェート、ホスファチジン酸またはそれらの混合物が挙げられ、いずれも好ましい。より好ましくは、卵黄レシチン、ホスファチジルコリン（ジミリストイルホスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジステアロイルホスファチジルコリン等）、ホスファチジルグリセロール（ジミリストイルホスファチジルグリセロール、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール、ジステアロイルホスファチジルグリセロール等）、またはそれらの混合物が挙げられる。

また、リポソーム原料として、上記した脂質以外に、膜安定化物質、例えば、コレステロール等を添加することができるし、酸化防止剤として、例えば、 α -トコフェロール等を添加することができる。

【0021】

本発明に用いられる脂質は、溶液、好ましくは濃厚な溶液、あるいは脂質溶液から溶媒を留去して得られた脂質の薄膜や粉末の状態で添加される。脂質溶液の溶媒としては、水溶性の有機溶媒が用いられる。例えば、メタノール、エタノールなどの炭素数が4までの低級アルコール、アセトンまたはアセトニトリルがあり、いずれも好ましい。より好ましくは、エタノールが用いられる。

本発明の方法によると、少量の有機溶媒を使用することにより微小なりポソームを製造することができる。例えば、脂質10重量部に対して、1～100重量部の有機溶媒が用いられる。より好ましくは1～50重量部の比率で用いられる。

また、本発明のリポソームは凍結乾燥製剤にすることができる。その際、リポソーム製造時に用いた有機溶媒がいくらか残存する。しかし、本願発明では少量の有機溶媒を使用することで微小なりポソームを製造できるので、残存する有機溶媒量も少量ですむことになる。例えば、脂質10重量部に対して1～100重量部の有機溶媒を用いたリポソームを凍結乾燥した場合に、残存する有機溶媒は

0.5～50重量部、より好ましくは、0.5～30重量部程度の少量となる。

【0022】

本発明において、リポソームに保持させる生理活性物質は特に制限されない。それらを保持させる方法としては、例えば、水溶性の生理活性物質は、前もって糖水溶液または糖スラリー中に添加され、そこに脂質を含むリポソーム原料が注入される。また疎水性の生理活性物質は、必要最小限の有機溶媒で溶解され、脂質を含むリポソーム原料と混合して、糖水溶液または糖スラリー中に注入される。

高濃度の糖水溶液または糖スラリーに、脂質を含むリポソーム原料を注入し混合する際、必要により攪拌することができる。攪拌には通常の攪拌のほか、ホモジナイザーなどの乳化・分散装置を用いた攪拌でもよい。もちろん乳化・分散を促す装置を用いて攪拌することにより粒子径は速やかに小さくできる。

【0023】

本発明の方法で製造することにより、過酷な物理的処理を使用しないで微小なリポソームを得ることができる。例えば、粒子径（動的光散乱法等で測定される）が約400nm以下の微小なリポソームを得ることができ、300nm以下の粒子径のリポソームをも容易に得ることができる。また、得られた微小なリポソームは必要により希釈することができる。

本発明により製造されるリポソームの粒子径は、実用上十分な程度に微小ではあるが、粒子径をさらに小さくしたり、粒子径分布をより均一にするために、さらに物理的処理、例えば、ポリカーボネートフィルターによるエクストルージョン、高圧乳化または超音波照射等の処理を行なってもよい。

【0024】

本発明で得られる生理活性物質を含有するリポソームは、非経口投与のための注射剤、例えば、リポソーム注射液、または用時溶剤に溶解または懸濁して用いる固形の注射剤に製剤化され使用される。この注射剤は、安定剤、懸濁化剤、乳化剤、無痛化剤、緩衝剤、保存剤等を含んでいてもよい。これらは最終工程において滅菌するか無菌操作法によって製造、調製される。また無菌の固形剤、例えば、凍結乾燥品を製造し、その使用前に無菌化または無菌の注射用蒸留水または

他の溶剤に溶解して使用することもできる。

非経口投与のためのその他の製剤としては、例えば、外用液剤、軟膏剤、塗布剤、吸入剤、スプレー剤、坐剤および腔内投与のためのペッサリー等に製剤化され使用される。

【 0 0 2 5 】

【実施例】

以下に、実施例によって本発明を詳述するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【 0 0 2 6 】

実施例 1

マルトース（1 k g）に水（1 L）を加え、加熱溶解した。室温まで冷却した 5 0 %マルトース水溶液に、卵黄レシチン（5.0 g）、エタノール（8.0 g）と脂溶性薬物（P G E 1 ・（ドデカノイルオキシ）エチルエステル；0.5 g）からなるレシチン溶液を注入した。溶液を毎分10,000回転で 3 0 分間攪拌して、本発明のリポソームを得た。このリポソームを水で全量 1 0 L まで希釈し、動的光散乱により平均粒子径を見積もった結果、リポソームの粒子径は 1 8 0 n m であった。

【 0 0 2 7 】

実施例 2

マルトース（1 k g）に水（0.3 L）を加えたマルトーススラリーに、卵黄レシチン（5.0 g）とエタノール（8.0 g）からなるレシチン溶液を注入した。スラリーを毎分8,000回転で 1 5 分間攪拌して、本発明のリポソームを得た。このリポソームを水で全量 1 0 L まで希釈し、動的光散乱により平均粒子径を見積もった結果、リポソームの粒子径は 2 0 0 n m であった。

【 0 0 2 8 】

実施例 3

マルトース（2 0 g）に水（8 m l）を加えたマルトーススラリーに、ジミリストイルホスファチジルコリン（0.1 g）とエタノール（0.2 g）からなる溶液を注入した。スラリーを毎分 1 0 0 回転で 6 0 分間攪拌して、本発明のリポソーム

を得た。このリポソームを水で全量 200 ml まで希釈し、動的光散乱により平均粒子径を見積もった結果、リポソームの粒子径は 130 nm であった。

【0029】

実施例 4

マルトース (20 g) に水 (8 ml) を加えたマルトーススラリーに、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルグリセロールおよびコレステロールからなる混合物 (65 : 5 : 30) (0.2 g) とエタノール (0.3 g) からなる溶液を注入した。スラリーを毎分 100 回転で 60 分間攪拌して、本発明のリポソームを得た。このリポソームを水で全量 200 ml まで希釈し、動的光散乱により平均粒子径を見積もった結果、リポソームの粒子径は 20 nm であった。

【0030】

比較例

マルトース (10 g) に水 (90 ml) を加えた 10% マルトース水溶液に、卵黄レシチン (0.3 g) とエタノール (3.0 g) からなるレシチン溶液を注入した。溶液を毎分 100 回転で 60 分間攪拌してリポソームを得た。このリポソームを水で、全量 100 ml まで希釈した。動的光散乱により平均粒子径を見積もった結果、リポソームの粒子径は 800 nm であった。

【0031】

実施例 5

各種糖の 50% 水溶液 (20 ml) に、卵黄レシチン (0.6 g) とエタノール (0.8 g) からなるレシチン溶液を注入した。溶液を、毎分 100 回転で 24 時間攪拌して、本発明のリポソームを得た。このリポソームを水で全量 100 ml まで希釈した。希釈液の波長 400 nm における吸光度を測定し、濁度を算出した。その結果を表 1 に示す。

【 0 0 3 2 】

【表 1】

糖	濁度
マルトース	1. 0 3
トレハロース	1. 1 0
ラクトース	0. 5 1
スクロース	0. 9 7
グルコース	0. 8 1
キシリトール	0. 9 1

【 0 0 3 3 】

濁度は、粒子径の指標として用いられる値であり、濁度が小さい値ほど、粒子径も小さいことを表わしている（Gregory Gregoriadis 編集、LIPOSOME TECHNOLOGY, Vol. I, 2nd Edition, 568-571（1993年発行））。

表 1 の結果を、マルトースを用いた実施例 1 での結果を併せて考えると、各糖についても、マルトースを用いたときの粒子径と同等またはそれ以下の粒子径のリポソームを得ることができたことがわかる。

【書類名】 要約書

【要約】

【構成】 高濃度の糖水溶液もしくは糖スラリーに、脂質を含むリポソーム原料を注入することにより得られる微小なリポソーム、およびその製造方法。

【効果】 本発明によると、少量の有機溶媒を使用して、また過酷な物理的処理を行わずに、容易かつ効率的に微小なリポソームを製造することができる。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	平成11年 特許願 第153579号
受付番号	59900512861
書類名	特許願
担当官	寺内 文男 7068
作成日	平成11年 7月 5日

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】	000185983
【住所又は居所】	大阪府大阪市中央区道修町2丁目1番5号
【氏名又は名称】	小野薬品工業株式会社

【代理人】

申請人

【識別番号】	100081086
【住所又は居所】	東京都中央区日本橋人形町2丁目2番6号 堀口 第2ビル7階 大家特許事務所
【氏名又は名称】	大家 邦久

【代理人】

【識別番号】	100088719
【住所又は居所】	東京都中央区日本橋人形町2丁目2番6号 堀口 第2ビル7階 大家特許事務所
【氏名又は名称】	千葉 博史

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000185983]

1. 変更年月日 1990年 9月 2日

[変更理由] 新規登録

住 所 大阪府大阪市中央区道修町2丁目1番5号

氏 名 小野薬品工業株式会社